T34 -SEMILLAS VERDES: SU INFLUENCIA EN LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLAS DE SOJA.

C. Gallo*.; M. R. Arango Perearnau.; R. M. Craviotto.
INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Ruta Nacional 11 KM 353. Oliveros. TEL (03476)498010.
cgallo@correo.inta.gov.ar*, rcraviotto@arnet.com.ar, marango@correo.inta.gov.ar

Palabras claves: Soja - Semilla verde - Calidad fisiológica

INTRODUCCIÓN

La creciente presencia de semillas verdes en los lotes de producción de soja en las últimas campañas ha generado interés entre los productores, semilleros y analistas de laboratorios.
La problemática de semillas verdes está asociada a la ocurrencia de condiciones ambientales desfavorables durante el desarrollo del cultivo, principalmente en el momento de formación de las semillas. Altas temperaturas y estrés hídrico generan un desbalance fisiológico en las plantas causando la muerte prematura (Wielbold, 2002). Otros factores que pueden inducir muerte prematura de las plantas son las enfermedades radiculares, foliares y los ataques intensos de chinches (França-Neto, 2005), impidiendo que las semillas continúen desarrollándose normalmente.

La coloración verde en las semillas de soja se debe a la presencia de pigmentos fotosintéticos conocidos como clorofilas. A medida que las semillas alcanzan su madurez, la clorofila es degradada por enzimas clorofilazas hasta adquirir la coloración amarilla normal de la especie. La natural degradación de la clorofila por el metabolismo de las semillas es interrumpida cuando las plantas mueren prematuramente permaneciendo verdes (Wielbold, 2002). El proceso de metabolización de la clorofila se ve también afectado por las altas temperaturas debido a la disminución de la actividad de las enzimas clorofilazas (Sinnecker, 2005; Bohner, 2002).

La importancia de la presencia de pigmentos clorofílicos en las semillas radica en que la desaparición de dichos pigmentos se utiliza como uno de los criterios para determinar la madurez de las semillas (Fehr and Caviness, 1977). La cantidad de semillas verdes que posee cada lote de semillas influye sobre la calidad fisiológica de dicho lote y por lo tanto es un factor importante a tener en cuenta al momento de decidir si el destino del lote será la siembra. El **objetivo del trabajo** fue evaluar la calidad fisiológica de lotes de soja con diferentes contenidos de semillas verdes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Semillas de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros (EEA Oliveros – INTA), Santa Fe, Argentina. Se utilizaron semillas de soja de 6 lotes que presentaron distintos porcentajes de semillas verdes (sv): lote 1 con 2% sv, lote 2 con 3% sv, lote 3 con 4% sv, lote 4 con 5% sv, lote 5 con 20% sv y lote 6 con 65% sv. Los lotes estudiados correspondieron a la campaña 2006.

Sobre 50 gramos de semillas enteras se determinó el porcentaje de semillas verdes y no verdes: sin defectos, abolladas, arrugadas y pequeñas en cada lote.

Se utilizaron las pruebas de Germinación Estándar (GE), Envejecimiento Acelerado (EA), Prueba Topográfica por Tetrazolio (TTz) y Conductividad Eléctrica Individual (CEI), para determinar la calidad de los lotes.

La GE se condujo con semillas sin curar y curadas con funguicida Thiram + Carbendazim (Ritiram Carb plus, Rizobacter Argentina). Se utilizaron 4 repeticiones de 100 semillas para cada lote (ISTA, 2003). Los resultados se expresaron como porcentaje de Plántulas Normales.

En la prueba de EA las semillas se sometieron a una temperatura de 41ºC durante 48 horas, 4 repeticiones de 100 semillas y se sembraron sin curar y curadas con funguicida Thiram + Carbendazim.

Para la realización de la TTz, se utilizó una solución al 0.1% de la sal de 2, 3,5 cloruro de trifenil tetrazolio. Las semillas se acondicionaron colocándolas en rollos de papel toalla humedecido y a temperatura ambiente durante 16 horas. Para completar la imbibición se sumergieron las semillas en agua durante dos horas antes de la inmersión en la sal de tetrazolio. La reacción se completó en dos horas a 35ºC, luego de lo cuál se enjuagaron las semillas con agua corriente y se realizaron las observaciones sobre cada semilla individualmente (Craviotto et al., 1995). Las variables observadas fueron calidad de las semillas (vigorosas, viables y no viables) y tipo de daño.

La CEI se realizó mediante el uso del Analizador Automático de Semillas SAD 9000S, (CONSULTAR S.H), que consta básicamente de un cabezal múltiple de medición de 100 celdas, gradillas múltiples de lixiviación para 100 semillas individuales, dosificador, bandeja de lavado y un software. Con el dosificador se colocaron en cada celda 7 ml de agua deionizada con 2 $\mu S.cm^{-1}$ de conductividad. En cada celda de la gradilla múltiple de lixiviación se introdujo una semilla y luego se incubó en cámara a 23ºC durante 20 horas. Para los análisis se utilizaron 4 repeticiones de 25 semillas. Luego de la incubación se realizó la medición de la CEI y los resultados se expresaron en promedios de CEI en $\mu S.cm^{-1}$, $\mu S.\ cm^{-1}.\ gr^{-1}$ y en porcientos de germinación y vigor. Para germinación y vigor se utilizaron valores de corte calculados a través de la comparación con la técnica de germinación y la prueba de vigor de envejecimiento acelerado.

Los valores en porcentajes se transformaron utilizando el arc sen $\sqrt{}$ %/100. Los resultados del ensayo se analizaron con un análisis de la variancia. Las medias de los tratamientos se compararon a través de la prueba de comparaciones múltiples de Duncan al nivel del 5% de probabilidad, por medio del INFOSTAT (2004).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El análisis visual de los lotes permitió caracterizarlos por los contenidos de semillas verdes que evidencia la presencia de clorofila en tegumentos y/o cotiledones, y semillas no verdes. Estas últimas mostraron distintos porcentajes de semillas sin defectos que corresponden a las que muestran el aspecto normal de la especie (esféricas lisas y amarillas) y semillas con defectos: arrugadas (ligeras ondulaciones del tegumento en la periferia), abolladas (severas ondulaciones y depresiones del tegumento y cotiledones en toda la superficie) y pequeñas (tamaño muy inferior al normal del cv.) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Caracterización de los lotes en base a la observación visual de color, forma y tamaño de las semillas.

			% Semillas no verdes		
Materiales	**% Semillas verdes**	**Sin defectos**	**arrugadas**	**abolladas**	**pequeñas**
L 1	2	80	0	16	2
L2	3	12	80	2	0
L 3	4	93	0	3	0
L 4	5	89	0	6	0
L 5	20	74	0	6	0
L 6	65	35	0	0	0

Las semillas verdes presentaron diferente grado de intensidad de color pero fácilmente observable a simple vista. Las semillas de los cultivares L1 y L3 presentaron mayor intensidad de color verde. Además todas las semillas verdes mostraron diferentes grados de arrugamientos y abolladuras.

Las Pruebas de Germinación Estándar y de Envejecimiento Acelerado con semillas sin curar mostraron resultados inferiores que con semillas curadas con funguicidas (Cuadro 2).

La prueba de GE de semillas sin curar mostró diferencias significativas entre lotes y fue la prueba que permitió una mejor discriminación de la calidad entre lotes. Tanto en la germinación como el vigor medido a través del EA con semillas curadas, el tratamiento

minimizó las diferencias de calidad y mejoró los resultados de producción de plántulas normales.

Los lotes 1,2 y 3 con contendidos de semilla verde inferiores a 5% son los que mostraron los mayores valores de germinación y vigor, tanto en semillas curadas como sin curar. Los lotes L1 y L3 contenían altos porcentajes de semillas no verdes sin defectos, valores intermedios de daños del ambiente y por picaduras de chinches que explicarían la calidad mostrada en las pruebas de laboratorio. Por otro lado, L2 si bien presentó alto porcentaje de semillas arrugadas, los altos valores de viabilidad y vigor obtenidos en la prueba de Tetrazolio conjuntamente con los daños intermedios del ambiente y bajos de chinche explicaría que a pesar de estar arrugadas las semillas en este caso particular poseían buena calidad fisiológica y fueron capaces de dar plántulas normales (Cuadro 3).

Los lotes L5 y L6 con altos valores de semilla verde mostraron valores de germinación y vigor por debajo de los niveles mínimos requeridos para su uso como simiente. A través de la prueba de Tz se evidencian altos porcentajes de daños del ambiente de producción y picaduras de chinche que explican los bajos niveles de calidad encontrados.

Cuadro 2. Valores de Germinación por Prueba de GE y Vigor por Prueba de EA en porcentaje (%) de semillas sin curar y curadas con funguicidas de los lotes en estudio.

	GE		EA	
Lote	**S/ curar**	**curada**	**S/ curar**	**curada**
Lote 1	85 e	88 c	71 cd	88 cd
Lote 2	82 d	92 c	78 d	87 cd
Lote 3	85 e	94 c	68 bcd	92 d
Lote 4	61 b	87 c	56 b	82 bc
Lote 5	74 c	76 b	63 bc	74 b
Lote 6	34 a	40 a	28 a	35 a

Valores seguidos de igual letra en la columna no difieren (α =0.05)

Cuadro 3. Resultados de la Prueba Topográfica por Tetrazolio expresados en porcentaje (%) de Germinación, Vigor y daños mecánicos, del ambiente y de chinche.

	Tetrazolio			% daños	
Lote	% **PG**	% **Vigor**	**mecánico**	**ambiente**	**chinche**
Lote 1	85	78	10	66	14
Lote 2	87	81	13	55	4
Lote 3	89	82	0	50	16
Lote 4	79	63	14	72	13
Lote 5	68	60	5	54	21
Lote 6	24	15	6	72	20

La prueba de conductividad eléctrica a través de la liberación de electrolitos a un medio acuoso mide la mayor o menor permeabilidad y/o la integridad de las membranas de las membranas celulares. Cuanto mayor sea la conductividad del líquido mayor es la pérdida de solutos o contenidos celulares. Los resultados de la Prueba de CEI mostraron un incremento exponencial en la lixiviación de solutos en lotes de semillas con contenidos crecientes de semillas verdes (Fig. 1).

El lote 2 presentó un valor de conductividad mayor al resto de los lotes que poseen menos de 5% de semillas verdes. El alto porcentaje de semillas arrugadas que poseía el lote 2 explicaría la elevada cantidad de solutos lixiviados debido a la desorganización de las membranas celulares de las áreas dañadas por el ambiente.

Estos resultados ponen de manifiesto una menor calidad fisiológica de las semillas de los lotes con altos niveles de daños por picadura de chinche y del ambiente de producción (Cuadro 3).

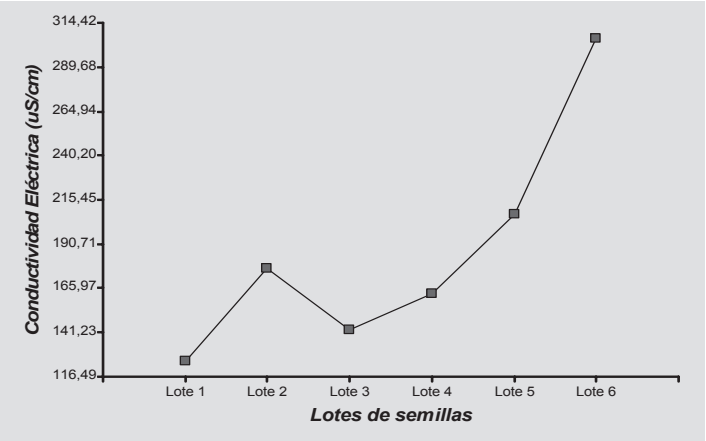

Figura 1. Conductividad Eléctrica Individual en $\mu S.cm^{-1}$ de lotes de semillas con contenidos crecientes de semillas verdes.

CONCLUSIONES

El incremento del contenido de semillas verdes en lotes de semillas con niveles superiores a 5% afecta la calidad del lote y este efecto puede llegar a ser tan importante que se descarte su uso como simiente.

La problemática del incremento de la producción de semillas verdes, sus diferentes manifestaciones y drásticas consecuencias en la calidad de la simiente es un tema que merece una extensa investigación.

AGRADECIMIENTOS

A los auxiliares y analistas del laboratorio de Semillas de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros que contribuyeron a la realización del ensayo.

BIBLIOGRAFÍA

Bohner, H. 2002. Green Soybeans. Disponibleen:http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/field/news/croptalk/2002/ct_1102a2.htm

Craviotto, R.M.; Fared, M.; Montero, M. 1995. Prueba topográfica por tetrazolio: patrones para la especie soja. Oliveros: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 20 pp.

Fehr, W.R. and Caviness, C.E. 1977. Stages of Soybean Development. Iowa St. Univ. Special Report 80. 11 pp

França-Neto, J.B.; Pádua, G.P.; Carvalho, M.L.M.; Costa, O.; Brumatti, P.S.R.; Krzyzanowski, F.C.; da Costa, N.P.; Henning, A.A.; Sanches, D.P. 2005. Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica. Circular Técnica 38. EMBRAPA. 8 pp.

InfoStat (2004). InfoStat versión 2004. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición. Ed. Brujas Argentina. 314 pp.

International Seed Testing Association (ISTA) . 2003. International Rules for Seed Testing. ISBN 3-906549-38-0 P.O. BOX 308, 8303 Basserdorf, CH- Switzerland, Suiza. Pag. 500

Sinnecker, P.; Braga, N.; Macchione, E.L.A.; Lanfer-Marquez, U.M. 2005. Mechanism of soybean (Glycine max L.Merrill) degreening related to maturity stage and postharvest drying temperature. Postharvest Biology and Technology. 38, 269-279.

Wielbold, B. 2002. Soybean plants killed before maturity possess grain that remains green. Disponible en: http:// w w w. psu.missouri.edu/soyx/green.pdf.